



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**FIO DE QUITOSANA: PROPRIEDADES MECÂNICAS E EFEITOS NA
CICATRIZAÇÃO TECIDUAL EM COELHOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

ALANE PEREIRA ALVES

PATOS-PB
2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**FIO DE QUITOSANA: PROPRIEDADES MECÂNICAS E EFEITOS NA
CICATRIZAÇÃO TECIDUAL EM COELHOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

ALANE PEREIRA ALVES

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá

PATOS-PB

2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

A474f

Alves, Alane Pereira

Fio de quitosana: propriedades mecânicas e efeitos na cicatrização tecidual em coelhos / Alane Pereira Alves. – Patos, 2016.

62f.: il. color.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2016.

“Orientação: Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá”

Referências.

1. Biopolímero. 2. Cirurgia. 3. Leporino. 4. Quitina. 5. Tênsil

I. Título.

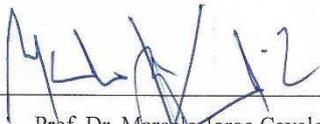
CDU 616:619

**FIO DE QUITOSANA: PROPRIEDADES MECÂNICAS E EFEITOS NA
CICATRIZAÇÃO TECIDUAL EM COELHOS**

ALANE PEREIRA ALVES

Aprovada em 29/02/2016

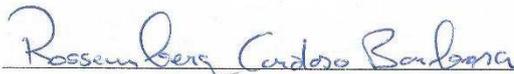
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG- Patos/PB
(Orientador)



Prof. Dr. Pedro Isidro da Nóbrega Neto
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG- Patos/PB



Prof. Dr. Rossemberg Cardoso Barbosa
Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais/CCT/UFCG

PATOS/PB

2016

DEDICO

À minha mãe, Socorro Pereira, que sempre acreditou nos meus sonhos, me incentivando e fazendo o possível por mim. Obrigada por tudo, amo-te hoje e sempre!

AGRADECIMENTOS

A Deus, a força que me faz seguir em frente todos os dias. Obrigada por me conceder saúde, proteção, perseverança, paciência e sabedoria nos momentos difíceis.

À minha mãe, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos, me orientando com sua sabedoria, obrigada por ser essa mãe guerreira, pela qual tenho muito orgulho.

À minha família e amigos por me apoiarem sempre.

Ao meu orientador, Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá, pela oportunidade, ensinamentos e orientações ao longo destes dois anos de convivência.

Aos meus amigos e colegas de equipe:

- Gracineide (Neide), obrigada por sua amizade, pela troca de experiências, risadas que não foram poucas, confidências e conselhos. Peço que Deus conserve essa nossa amizade pra sempre e que ele abençoe seu caminho;

- Alricélia, pessoa pela qual tenho um grande carinho e admiração, obrigada por sua amizade. Que Deus possa te iluminar sempre;

- Renato, esse ser humano incrível que sempre está disposto a ajudar o próximo. Obrigada por sua amizade, pelos momentos de descontração e ensinamentos, continue sendo essa pessoa maravilhosa e esse ótimo profissional;

- Fernanda, obrigada por toda ajuda e orientações que tens me dado, apesar do pouco tempo que nos conhecemos não é difícil perceber essa pessoa linda que és, com sua tranquilidade, paz e brilho interior que contagia a todos em sua volta. Que Deus te abençoe a cada dia;

- Lylian, obrigada por toda ajuda que me destes ao longo do experimento;

- Peterson, obrigada por tudo, continue sendo esse aluno dedicado e responsável;

- Érica, obrigada pela troca de experiências e contribuição;

- Kalyne, obrigada pelos momentos de risadas ao longo dos projetos, pela troca de conhecimentos e ajuda. Que Deus te abençoe nesta nova etapa da sua vida;

- Milena, obrigada por sempre está disposta a me ajudar no projeto. Grande profissional;

Ao Professor Pedro Isidro da Nóbrega Neto pela contribuição no trabalho e disposição em me ajudar nos momentos que o procurei, és um grande homem e profissional.

Aos professores Rossemberg Cardoso Barbosa e Marcus Vinícius de Lia Fook pela contribuição no experimento e ótima recepção que tiveram para comigo quando cheguei ao Certbio.

Aos professores Antônio Flávio e Márcia Melo, pela disposição em tirar minhas dúvidas.

À doutoranda Rita de Cássia pela grande contribuição no trabalho. Que Deus te ilumine.

A todos os profissionais do Hospital Veterinário e do Certbio que, diretamente ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao secretário da pós-graduação Jonas, por toda paciência e competência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande, pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES, pela concessão da bolsa.

*Por isso não tema, pois estou com você.
Eu o fortalecerei e o ajudarei; eu o
segurarei com a minha mão direita
vitoriosa.*

Isaías 41:10

“ Ao menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, são seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

(Albert Einstein)

RESUMO

Esta dissertação é composta por dois capítulos, no primeiro capítulo, objetivou-se avaliar as propriedades mecânica e dimensional de fios de sutura à base de quitosana, comparando-as com as preconizadas pela norma NBR 13904/2003. Utilizou-se uma máquina de ensaio universal e um micrômetro digital. Os parâmetros mecânico e dimensional analisados foram a resistência quanto à tração e o diâmetro, respectivamente. O valor médio do diâmetro dos fios de quitosana apresentou variação e observou-se resistência à tração ligeiramente abaixo da norma preconizada, com rápida deformação. O fio de quitosana, na forma em que foi produzido, apresentou variabilidade dimensional e baixa resistência à tração, havendo a necessidade de melhorias no método de fabricação do mesmo. No segundo capítulo objetivou-se avaliar o processo de cicatrização da musculatura reto-abdominal em coelhos submetidos à laparotomia e laparorráfia utilizando-se o fio de sutura à base de quitosana, comparando-o aos fios de catagute cromado e poliglactina 910. Foram utilizados 24 coelhos adultos, separados em quatro grupos: quitosana e catagute 15 dias (QC-15dias), quitosana e catagute 30 dias (QC-30 dias), quitosana e poliglactina 910 15 dias (QP-15 dias) e quitosana e poliglactina 910 30 dias (QP-30 dias), sendo cada grupo composto por seis coelhos, nos quais foram realizadas duas incisões bilaterais paramamárias por meio da técnica de laparotomia, sendo posteriormente realizada a laparorráfia com o fio de quitosana de um lado e do outro com o catagute cromado ou poliglactina 910. A metodologia de produção do fio influenciou na toxicidade do mesmo que desencadeou uma resposta inflamatória acentuada prejudicando o processo de cicatrização, havendo a necessidade de mais estudos e melhorias no método de produção do fio de quitosana. Concluiu-se que a forma de produção do fio de quitosana interferiu na sua biomecânica, valor dimensional e resposta biológica, apresentando-se com baixa resistência à tração, variabilidade nas suas dimensões e prejudicando o processo de cicatrização em coelhos.

Palavras-chaves: biopolímero, cirurgia, leporino, quitina, tênsil.

ABSTRACT

This thesis consists of two chapters, the first chapter aimed to evaluate the mechanical and dimensional properties of chitosan-based suture, comparing them with those recommended by the NBR 13904/2003. Used was a universal testing machine and a digital micrometer. The mechanical and dimensional parameters analyzed were the resistance and tensile strength and diameter, respectively. The average diameter of the chitosan showed variation and yarn tensile strength was observed slightly below the recommended standard, with rapid deformation. The chitosan yarn in the form in which it was produced, presented dimensional variability and low tensile strength, there is a need for improvements in the method of manufacturing the same. In the second chapter aimed to evaluate the healing process of rectus abdominis muscle in rabbits submitted to laparotomy and laparorrhaphy using the wire chitosan-based suture, comparing it to the wire chrome and polyglactine catgut 910. 24 were used adult rabbits, divided into four groups: chitosan and catgut 15 days (QC-15dias), chitosan and catgut 30 days (QC-30 days), chitosan and polyglactin 910 15 days (QP-15 days) and chitosan and polyglactin 910 30 days (QP-30 days), each group consisting of six rabbits in which there were two bilaterais incisions paramammary by laparotomy technique subsequently performed laparotomy with chitosan wire on one side and the other with the chromic catgut or polyglactin 910. the wire production methodology influenced the toxicity of it that triggered a marked inflammatory response impairing the healing process, with the need for further studies and improvements in the production method of chitosan wire. It was concluded that the form of production of chitosan wire interfered with his biomechanics, dimensional value and biological response, presenting with low tensile strength, variability in size and impairing the healing process in rabbits.

Keywords: biopolymer, surgery, cleft, chitin, tensile.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	13
1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. REFERÊNCIAS	15
3. CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA E DIMENSIONAL DO FIO DE SUTURA À BASE DE QUITOSANA	17
RESUMO	18
ABSTRACT	19
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
CONCLUSÃO.....	23
AGRADECIMENTOS	23
REFERÊNCIAS	23
4. CAPÍTULO II: CICATRIZAÇÃO DA MUSCULATURA RETO-ABDOMINAL EM COELHOS SUBMETIDOS À LAPARORRAFIA COM FIOS DE SUTURA À BASE DE QUITOSANA, CATEGUTE CROMADO E POLIGLACTINA 910.....	31
RESUMO	32
ABSTRACT	33
INTRODUÇÃO.....	33
MATERIAL E MÉTODOS.....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS	44
CONCLUSÕES GERAIS	47
ANEXOS.....	49

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Diâmetro e resistência à tração dos fios de suturas absorvíveis exigíveis pela NBR 13904/2003.....	27
Tabela 2. Resultados dos diâmetros dos fios de quitosana após aferição dimensional.	28
Tabela 3. Valor médio dos diâmetros dos fios de suturas absorvíveis estabelecidos pela NBR 13904/2003.....	29
Tabela 4. Valor máximo da carga suportada pelo fio de quitosana durante o teste de resistência à tração, diâmetro médio e carga desejada segundo a norma NBR 13904/2003 para fios 3-0.....	30

CAPÍTULO II

Tabela 1. Escores (média±desvio padrão) da resposta celular na análise histopatológica dos grupos GQ e GC aos 15 e 30 dias de pós-operatório.....	40
Tabela 2. Escores (média±desvio padrão) da resposta celular na análise histopatológica dos grupos GQ e GP aos 15 e 30 dias de pós-operatório.	41

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Máquina de ensaio universal (A) e ensaio mecânico,(seta) fio de quitosana no momento do teste (B).	266
---	-----

CAPÍTULO II

Figura 1. Morfologia do fio de quitosana monofilamentar	38
Figura 2. (A) Infiltrado neutrofílico (seta preta) em volta do material eosinofílico birrefringente (seta amarela) no período de 15 dias. HE. Objetiva 10X. (B) Infiltrado neutrofílico , em volta do material eosinofílico birrefringente no período de 30 dias. HE. Objetiva 10X.	422

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% - por cento

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior,

CSTR – Centro de Saúde e Tecnologia Rural

cm - centímetro

HE- hematoxilina e eosina

HV - Hospital Veterinário

Kg - quilograma

MEV- microscopia eletrônica de varredura

mg/kg – miligrama por quilograma

mg - miligrama

mL/h – mililitro por hora

M/L – mol por litro

NAOH- hidróxido de sódio

N- Newton

PEO- polietileno

QC- Quitosana e categute cromado

QP –Quitosana e poliglactina 910

UFMG – Universidade Federal Campina Grande

1. INTRODUÇÃO GERAL

O fio de sutura é um material utilizado para síntese de feridas, podendo ser produzido sinteticamente, derivado de fibras vegetais ou estruturas orgânicas. Esse material tem a finalidade de unir e coaptar as bordas dos ferimentos provocados cirurgicamente, objetivando permitir o processo fisiológico de cicatrização (CAMPOS et al., 2009).

Os fios de suturas precisam suportar as forças exercidas pelos tecidos por isso, a forma confiável para determinação das propriedades mecânicas de materiais biológicos é a realizada mediante ensaios padronizados que propiciem resultados comparáveis e reprodutíveis, denominados de ensaios mecânicos (MORAES et al., 2003).

Há uma constante procura por materiais e métodos de síntese que sejam biocompatíveis, de fácil manipulação, previnam infecção e que promovam um melhor reparo da cicatrização tecidual (RIBEIRO et al., 2005).

A engenharia tecidual é um campo multidisciplinar que envolve a aplicação de princípios e métodos da engenharia e das ciências da saúde para assistir e acelerar a regeneração e o reparo de tecidos defeituosos ou danificados. Deste modo, essa ciência visa criar e aprimorar novas terapias e/ou desenvolver novos biomateriais que restaurem, melhorem ou impeçam o agravamento da função tecidual comprometida (OLIVEIRA et al., 2010).

A produção de biomateriais à base de quitosana tem sido foco das pesquisas, visto que a utilização de polímeros naturais para aplicações diversificadas contribuem para os avanços das ciências e apresentam diversas vantagens relacionadas à fácil aplicabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (AZEVEDO et al., 2007).

A quitosana é um biopolímero derivado da quitina, que é um polissacarídeo abundantemente encontrado na natureza, geralmente obtida em laboratórios de pesquisa bem como nas indústrias, pela hidrólise alcalina dos grupos acetamida da quitina (FILHO et al., 2007).

A estrutura química da quitosana reforça a indicação do seu uso quanto a sua atividade cicatrizante e reparadora, pois esse biopolímero é capaz de aumentar as funções de células inflamatórias como os leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, promovendo organização celular e atuando no reparo de feridas amplas (UENO et al., 2001). Vários estudos descrevem o efeito estimulante da quitosana no processo de

cicatrização, na formação de tecido de granulação, na angiogênese, na formação de fibras de colágeno e na ativação da resposta imune (FRÁGUAS et al., 2015).

Diante de várias pesquisas e perspectivas em torno de materiais à base de quitosana, os experimentos propostos nessa dissertação foram realizados para avaliar as propriedades biomecânicas da quitosana e sua influência no processo da reparação tecidual. Para tal, essa dissertação é composta por dois capítulos, sendo o primeiro um estudo sobre a avaliação biomecânica e dimensional do fio de quitosana e o segundo, uma avaliação da cicatrização da musculatura reto-abdominal em coelhos submetidos à laparotomia e laparorrafia por meio da utilização dos fios de sutura à base quitosana, catagute cromado e poliglactina 910.

2. REFERÊNCIAS

AZEVEDO, V. V. C; CHAVES, S. A; BEZERRA, D. C.; FOOK, M. V. L.; COSTA, A. C. F. M. Quitina e quitosana: aplicações como materiais. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, p. 27-34, 2007.

CAMPOS, G. J. L; FILHO. J. R. L; CARVALHO, R. W. F.; ARAÚJO, F. A. C.; ANTUNES, A. A.; FALCÃO, P. G. C. B. Análise da resistência de tensão de três diferentes fios de sutura utilizados em cirurgia bucal. **Revista Brasileira de Cirurgia da Cabeça e Pescoço**, v. 38, n. 1, p. 15-18, 2009.

FILHO, S. P. C; SIGNINI, R; CARDOSO, M. B. et al. Propriedades e aplicações de quitosana. **Revista Processos Químicos**, ano.1, n.2, 2007.

FRÁGUAS, R. M; ROCHA, D. A; QUEIROZ, E. R.; ABREU, C. M. P.; SOUSA, R. V.; OLIVEIRA JÚNIOR, E. N. Caracterização química e efeito cicatrizante de quitosana, com baixos valores de massa molar e grau de acetilização em lesões cutâneas. **Polímeros**, v. 25, n. 2, p. 205-211, 2015.

MORAES, J. R. E; FÁVARO, A. F; SHIMANO, A. C.; FERRARO, G. C.; MORAES, F. R. Propriedades mecânicas de três fios de sutura no reparo do tendão do músculo

flexor profundo do dedo de cães. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 6, p. 443-451, 2003.

OLIVEIRA, L. S. A. F.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea - método de análise e perspectivas futuras. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2010.

RIBEIRO, C. M. B; JÚNIOR, V. A. S; NETO, J. C. S.; VASCONCELOS, B. C. E. Estudo clínico e histopatológico da reação tecidual às suturas interna e externa dos fios monofilamentares de nylon e poliglecaprone 25 em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 20, n. 4, p. 284-291, 2005.

UENO, H.; MURAKAMI, M.; OKUMURA, M.; KADOSAWA, T.; UEDE, T.; FUJINAGA, T. Chitosan accelerates the production of osteopontin from polymorphonuclear leukocytes. **Biomaterials**, v. 22, n.12, p. 1667-1673, 2001.

**3. CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO BIOMECÂNICA E DIMENSIONAL DO
FIO DE SUTURA À BASE DE QUITOSANA**

Manuscrito submetido à
Revista Ciência Rural

Avaliação biomecânica e dimensional do fio de sutura à base de quitosana

Biomechanical and dimensional evaluation of the suture based on chitosan

Alane Pereira Alves^{1*} Marcelo Jorge Cavalcanti de Sá¹ Marcus Vinícius Lia Fook^{II}

Gracineide Costa Felipe^I Fernanda Vieira Henrique^I

Érica Emerenciano Albuquerque^I Lylian Karlla Gomes de Medeiros^I

Peterson Renê da Silva Alexandre^I

^IPrograma de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), *Campus* de Patos. Rua Afonso Kerle, nº 18, 58705-150, Noé Trajano, Patos, PB, Brasil. E-mail: lane.p@hotmail.com. *Autor para correspondência.

^{II}Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais (UAEM), UFCG, Campina Grande, PB, Brasil.

RESUMO

A resistência à tração e o diâmetro são características de grande importância na avaliação da qualidade de fios de sutura, estando relacionadas à capacidade destes de suportar o estresse promovido pelas forças atuantes em determinados tecidos. Desta forma, objetivou-se com este estudo avaliar as propriedades mecânica e dimensional de fios de sutura à base de quitosana, comparando-as com as preconizadas pela norma NBR 13904/2003. Tais propriedades foram avaliadas usando uma máquina de ensaio universal e um micrômetro digital. Os parâmetros mecânico e dimensional analisados foram a resistência quanto à tração, deformação e o diâmetro, respectivamente. O valor médio do diâmetro dos fios de quitosana apresentou variação e observou-se resistência à tração ligeiramente abaixo da norma preconizada, com rápida deformação. O fio de quitosana, na forma em que foi produzido, apresentou variabilidade dimensional e baixa resistência à tração, havendo a necessidade de melhorias no método de fabricação do mesmo.

Palavras-chaves: biomecânica, polímero, quitina, tênsil.

ABSTRACT

The tensile strength and diameter are very important characteristics in assessing the quality of suture, being related to their ability to withstand the stress caused by forces acting in certain tissues. Thus, the aim of this study was to evaluate the mechanical and dimensional properties of chitosan-based suture, comparing them with those recommended by the NBR 13904/2003. These properties were evaluated by using a universal testing machine and a digital micrometer. The mechanical and dimensional parameters analyzed were as resistance to traction, deformation and diameter, respectively. The average diameter of the chitosan showed variation and yarn tensile strength was observed slightly below the recommended standard, with rapid deformation. The chitosan yarn in the form in which it was produced, presented dimensional variability and low tensile strength, there is a need for improvements in the method of manufacturing the same.

Keywords: polymer, chitin, tensile.

INTRODUÇÃO

A quitosana é um biopolímero hidrofílico obtido a partir da quitina que é um dos polissacarídeos mais abundantes na natureza, extraído da casca de crustáceos, ou ainda, da parede celular de alguns fungos (Neto-Spin *et al.*, 2008).

Os biomateriais à base de quitosana constituem uma classe que vem se destacando, apresentando propriedades usualmente aplicáveis em vários campos biomédicos. Assim, vários estudos têm sido realizados utilizando-se a quitosana na produção de diversos materiais especializados, tais como, géis, pomadas, filmes, materiais para bandagens, soluções e fios de sutura, principalmente com modificações químicas e físicas, as quais têm promovido atividades biológicas para fins específicos (Neto-Spin *et al.*, 2008) e (Aranaz *et al.*, 2009).

Godeiro (2010) observou que o fio de quitosana utilizado nas suturas do peritônio de ratos apresentou pouca reação tecidual, com menor infiltrado inflamatório, mínima presença de fibroblasto e deposição de colágeno quando comparado ao fio de náilon.

Um fio de sutura ideal deve apresentar características como: segurança no nó, resistência tênsil, fácil manuseio, mínima reação tecidual e adequada resistência durante a fase de cicatrização (Sandenberg, 2003). Assim, os estudos relacionados à produção de fios de sutura com tais propriedades estão cada vez mais frequentes na pesquisa voltada à medicina humana e veterinária.

A Norma NBR 13904 de Maio de 2003, elaborada e editada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas, regula as propriedades mecânicas e fixa os requisitos exigíveis para a liberação final do processo de fabricação de fios de sutura cirúrgica absorvíveis, não absorvíveis naturais e não absorvíveis sintéticos (ABNT, 2003).

Os ensaios biomecânicos têm uma grande importância na avaliação da qualidade do fio de sutura uma vez que proporcionam informações relacionadas à capacidade do fio de suportar o estresse promovido pelas forças atuantes de determinados tecidos (Sandenberg, 2003). No ensaio mecânico de tração, o material é submetido à ação de duas forças opostas, aplicadas em pontos diferentes e sentidos contrários, provocando alongamento no sentido longitudinal e encurtamento no sentido transversal (Moraes *et al.*, 2003). A resistência à tração é uma das características ideais que os fios de suturas precisam possuir, ela é a carga máxima que o fio de sutura é capaz de suportar até o ponto de ruptura (Castro *et al.*, 2007) e (Campos *et al.*, 2009).

Desta forma, objetivou-se com esse estudo avaliar as propriedades mecânica e dimensional de fios de sutura à base de quitosana, comparando-as com as preconizadas pela norma NBR 13904/2003.

MATERIAL E MÉTODOS

A produção do fio e os ensaios biomecânico e dimensional foram realizados no laboratório do CERTBIO pertencente ao Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande, *Campus* de Campina Grande, Paraíba, Brasil.

O ensaio biomecânico e dimensional foi realizado por um único analista em ambiente climatizado com temperatura de 23,9°C e umidade relativa de 46%.

Para a análise biomecânica utilizou-se uma máquina de ensaio universal (modelo 3366, Instron) (Fig. 1A) e o software (Instron bluehil) que controla a carga dada em

Newton (N) com velocidade de 120,00000 mm/min. Os parâmetros mecânicos analisados foram a resistência quanto à tração e deformação do fio. As unidades utilizadas foram a N (Newton) e milímetros (mm), respectivamente.

A análise do parâmetro dimensional foi realizada com micrômetro digital (modelo Coolant Proof Série 293, Mitutoyo) com abertura de 0 a 25 mm e precisão de 0,01. A dimensão analisada foi o diâmetro do fio, dado em milímetros (mm).

A metodologia utilizada para o estudo dos parâmetros foi a descrita na norma NBR 13904/2003 (ABNT, 2003).

Foram analisados vinte fios de suturas à base de quitosana. Os diâmetros foram avaliados no momento do ensaio de tração para garantir que o fio estivesse completamente esticado medindo-o em três pontos, aproximadamente, a $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ e $\frac{3}{4}$ do comprimento total. Posteriormente, obteve-se a média das amostras e compararam-se os resultados com a Norma– NBR 13904/2003 (Tab. 1). Depois, as extremidades do fio foram presas entre duas garras da máquina de ensaio universal, sendo o equipamento acionado até a ruptura do fio, registrando-se o instante do rompimento (Fig. 1B).

Para a análise estatística foi utilizado o programa computacional Bioestat 5.0, realizando-se a análise descritiva dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diâmetro dos fios de quitosana (Tabela 2) apresentou variabilidade, porém, mostrou-se dentro da norma estabelecida pela NBR 13904/2003 para os fios de sutura 3-0, que estabelece que nenhum dos diâmetros observados pode ser menor do que a média da faixa imediatamente anterior ou maior do que a média da faixa imediatamente posterior à faixa do fio analisado (ABNT, 2003) (Tabela 3).

Os resultados obtidos no ensaio biomecânico mostraram que os fios de quitosana estão em desacordo com a norma NBR 13904/2003, pois os mesmos apresentaram resistência à tração menor do que exige a norma para fios de suturas com diâmetro 3-0, deformando rapidamente (Tabela 4). Acredita-se que a baixa resistência à tração esteja relacionada à variabilidade do diâmetro do fio, pois os locais de baixo diâmetro (menor área de secção) são zonas concentradoras de estresse, facilitando a ruptura do mesmo. Um material com diâmetro regular distribui uniformemente toda força a ele exercida,

conferindo-lhe maior resistência (Telles, 2009).

Telles (2009) ao avaliar as propriedades mecânicas e dimensionais do fio de biopolímero da cana-de-açúcar, observou que o mesmo apresentou baixa resistência mecânica e grandes variações dimensionais, atribuindo a ausência de uniformidade no diâmetro do fio ao seu processo de fabricação artesanal a partir de membranas circulares do biopolímero, não sendo o mesmo submetido a técnicas de beneficiamento. Os fios de quitosana foram produzidos pela técnica de fiação úmida que consiste em transformar fibras em fios resultantes da extrusão de polímeros através de uma bomba infusora (DENTRON; DANIELS, 2002), não havendo nenhum processo de beneficiamento na fabricação do mesmo, concordando com a afirmação feita por Telles (2009).

O diâmetro do fio de sutura tem uma grande importância na resposta inflamatória, pois a reação tecidual causada por ele é proporcional à sua espessura, ou seja, uma sutura feita com um fio de diâmetro calibroso apresenta uma resposta mais intensa no tecido do que aquela realizada com o mesmo tipo de fio, porém com diâmetro menor (Peterson *et al.*, 2005). O fio de quitosana por ter apresentado variação dimensional e pouca elasticidade, necessita de mais nós para dar sustentação à sutura, conseqüentemente havendo um maior acúmulo de material no local da ferida, provocando uma acentuada reação tecidual.

Durante o ensaio biomecânico observou-se que os fios de quitosana usados no teste não apresentaram uma boa manipulação, pois eles estavam rígidos, tais resultados corroboram com a afirmação feita por (Lapointe *et al.*, 2016) eles observaram que as suturas monofilamentares são mais rígidas e propensas para desatar, já as suturas multifilamentares exibem propriedades de manipulação mais favoráveis com uma maior flexibilidade e elasticidade. A propriedade de elasticidade é importante, pois as suturas devem ser capazes de esticar para acomodar o edema da ferida e recuar para seu comprimento original com a contração da ferida.

Recentemente, a reticulação vem sendo utilizada como uma das formas para modificação química estrutural da quitosana, visando aumentar sua estabilidade química e física, empregando diferentes agentes de ativação como glicidol, epicloridrina, glutaraldeído, glioxal, formaldeído, trifosfato de sódio e genipina formando estruturas complexas e conferindo maior resistência ao material (Mendes *et al.*, 2011), com isso

novos estudos podem ser feitos com agentes reticulantes, objetivando conferir mais resistência mecânica aos fios do polímero de quitosana.

CONCLUSÃO

O fio de quitosana, na forma em que foi produzido, apresentou variabilidade dimensional, baixa resistência à tração e pouca elasticidade, havendo a necessidade de melhorias no método de fabricação, além da realização de novos estudos acerca de métodos que confirmam uma maior resistência ao mesmo.

FONTES DE AQUISIÇÃO

^aMáquina de ensaio universal modelo 3366, Instron.

^bSoftware para ensaio de materiais Bluehill, Instron.

^c Micrômetro digital modelo Coolant Proof Série 293, Mitutoyo.

AGRADECIMENTOS

À Capes, pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Certbio pela produção dos fios de quitosana e realização dos testes de citotoxicidade e biomecânica.

REFERÊNCIAS

ARANAZ, I. et al. Functional characterization of chitin and chitosan. **Current Chemical Biology**, v. 3, n. 2, p. 203-230, 2009. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/ben/ccb/2009/00000003/00000002/art00009>>. Acesso em: 20 dez. 2016. doi:10.2174/187231309788166415.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13904. Fios para sutura cirúrgica. Rio de Janeiro, 2003.

CAMPOS, G. J. L.; FILHO, J. R. L.; CARVALHO, R. W. F. et al. Análise da resistência de tensão de três diferentes fios de sutura utilizados em cirurgia bucal. **Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço**, v.38, n.1, p.15-18, 2009. Disponível

em:<http://www.sbccp.org.br/wp-content/uploads/2014/11/art_04.pdf > Acesso em: 03/02/2016.

CASTRO, H.L. et al. Propriedades físicas dos fios de sutura usados na odontologia. **Cienc Odontol Bras**, v. 10, n. 2, p. 85-90, 2007. Disponível em: <<http://ojs.fosjc.unesp.br/index.php/cob/article/viewFile/344/272>>. Acesso em: 06/01/2016. doi: 10.14295/bds.2007.v10i2.344 .

DENTRON, M.J; DANIELS, P.N. Textile terms and definitions. The textile institute, Manchester, 2002.

GODEIRO, J. R .S. **Estudo comparativo da reação tecidual entre fios de nylon e quitosana em suturas no peritônio de ratos**. Monografia – Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, p. 38, 2010.

MENDES, A. A et al. Aplicação de quitosana como suporte para a imobilização de enzimas de interesse industrial. **Química Nova**, v. 34, n. 5, p. 831-840, 2011. Disponível em:< <http://www.scielo.br/pdf/qn/v34n5/19.pdf>>. Acesso em: 28 dez. 2015. doi: 10.1590/S0100-40422011000500019.

NETO-SPIN, R. et al. Biomateriais à base de quitosana com aplicação médica e odontológica: revisão de literatura. **Revista de odontologia da UNESP**, v. 37, n. 2, p. 155-161, 2008. Disponível em: <<http://revodontolunesp.com.br/files/v37n2/v37n2a09.pdf>>. Acesso em: 07 jan. 2016.

PETERSON, L.J. et al. **Cirurgia Oral e Maxilofacial Contemporânea**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 816 p.

SANDENBERG, T. et al. Assessment of me chanical propertis and dimensions of suture threads utilized in orthopedic surgeries . **Acta Ortopedica Brasileira**, v. 11, n.2, p. 88-94, 2003. Disponível em: <

http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-78522003000200004>.

Acesso em: 04 jan. 2016. doi: 10.1590/S1413-78522003000200004

TELES, A.A.P. Avaliação das propriedades mecânicas e dimensões do fio do biopolímero da cana-de-açúcar e de fios de sutura utilizados em cirurgias ortopédicas. 2009. 30f. Monografia (Residência de Ortopedia e Traumatologia) - Hospital Getúlio Vargas, Recife.

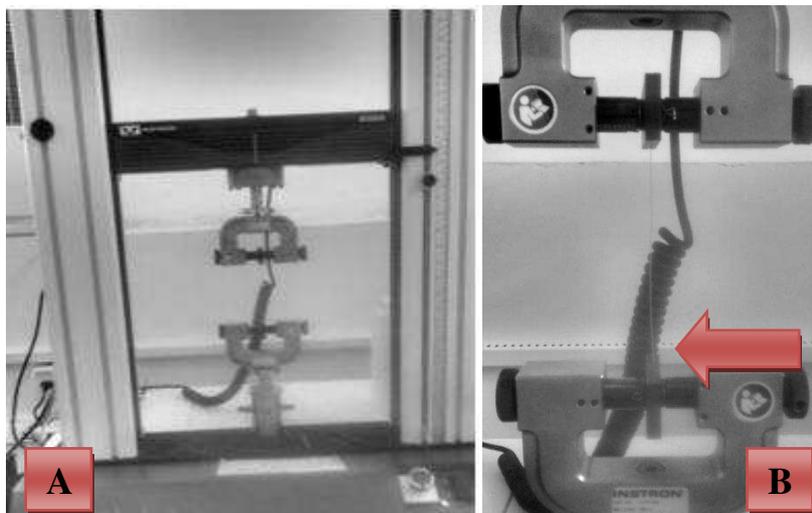


Figura 1. Máquina de ensaio universal (A) e ensaio mecânico, (seta) fio de quitosana no momento do teste (B).

Tabela 1. Diâmetro e resistência à tração dos fios de suturas absorvíveis orgânicos exigidos pela NBR 13904/2003.

Número		Diâmetro (mm)		Resistência à tração (N)
Métrico	Cirúrgico	Mínimo	Máximo	Média
3	3-0	0,300	0,339	12,26
3,5	2-0	0,350	0,399	19,62
4	0	0,400	0,499	27,17

Tabela 2. Resultados da aferição dimensional dos fios de quitosana após aferição dimensional.

Diâmetro dos fios de quitosana (mm)	
Diâmetro mínimo	0,311
Diâmetro máximo	0,376
Desvio padrão	0,032
Média	0,343
Mediana	0,343

Tabela 3. Valor mínimo, máximo e médio dos diâmetros dos fios de sutura absorvíveis orgânicos estabelecidos pela NBR 13904/2003.

Número		Diâmetro (mm)		
Métrico	Cirúrgico	Mínimo	Máximo	Média
2	4-0	0,200	0,249	0,224
3	3-0	0,300	0,339	0,319
3,5	2-0	0,350	0,399	0,374
4	0	0,400	0,499	0,449

Tabela 4. Valor máximo da carga suportada pelo fio de quitosana durante o teste de resistência à tração, diâmetro médio e carga exigida pela norma NBR 13904/2003 para fios 3-0.

Fios	Carga Máxima Obtida(N)	Diâmetro Médio (mm)	Número Cirúrgico (ABNT NBR 13904)	Carga Exigida (N)	Percentual Adquirido (%)
quitosana	9,84027	0,3433	3 – 0	12,26	80,26%

**4. CAPÍTULO II: CICATRIZAÇÃO DA MUSCULATURA RETO-
ABDOMINAL EM COELHOS SUBMETIDOS À LAPARORRAFIA COM
FIOS DE SUTURA À BASE DE QUITOSANA, CATEGUTE CROMADO
E POLIGLACTINA 910**

Manuscrito submetido à Revista
Arquivo Brasileiro de Medicina
Veterinária e Zootecnia/UFMG –
Belo Horizonte.

Cicatrização da musculatura reto-abdominal em coelhos submetidos à laparorráfia com fios de sutura à base de quitosana, categute cromado e poliglactina 910

[Healing of the rectus abdominis muscle in rabbits submitted to laparorrhaphy with suture-based chitosan, chromic catgut and polyglactin 910]

A.P. Alves^{1*}, M.J.C. Sá², M.V.L. Fook³, R.C.A.L. Cruz³, R.O. Rêgo¹, M.N. Moreira¹,
A.F.M. Dantas², A.S. Azevedo⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária/UFCG - Patos, Paraíba.

²Professor Doutor da UAMV/UFCG – Patos, Paraíba.

³Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais/UFCG - Campina Grande, Paraíba.

⁴Professor doutor do IFPB - Sousa, Paraíba.

*Autora para correspondência. E-mail: lane.p@hotmail.com.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar o processo de cicatrização da musculatura reto-abdominal em coelhos submetidos à laparotomia e laparorráfia utilizando-se o fio de sutura à base de quitosana, comparando-o aos fios de categute cromado e poliglactina 910. Foram utilizados 24 coelhos adultos, divididos aleatoriamente em quatro grupos: quitosana e categute 15 dias (QC-15dias), quitosana e categute 30 dias (QC-30 dias), quitosana e poliglactina 910 15 dias (QP-15 dias) e quitosana e poliglactina 910 30 dias (QP-30 dias). Cada grupo foi composto por seis coelhos, nos quais foram realizadas duas incisões bilaterais paramamárias, posteriormente, a laparorráfia com o fio de quitosana de um lado e categute cromado ou poliglactina 910 do outro. Realizou-se análise clínico-cirúrgica, histológica e avaliação de achados de necropsia, além de testes de citotoxicidade e mecânica no fio de quitosana, seguindo as normas ISO 10993-5 e NBR 13904/2003, respectivamente. Ele apresentou baixa resistência mecânica e citotóxico. O fio de quitosana utilizado neste estudo não proporcionou uma cicatrização satisfatória em coelhos, pois desencadeou uma resposta inflamatória acentuada, possivelmente devido à toxicidade do fio adquirida durante sua produção, sendo necessários mais estudos no que diz respeito a sua produção e utilização.

Palavras-chaves: cirurgia, leporino, quitina, reparação tecidual.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the healing process of rectus abdominis muscle in rabbits Submitted to laparotomy and laparorrhaphy using chitosan-based suture wire, comparing it to the wire chrome catgut and polyglactin 910. Were used 24 adult rabbits Were randomly divided into four groups: chitosan and catgut 15 days (QC-15 days), chitosan and catgut 30 days (QC-30 days), chitosan and polyglactin 910 15 days (QP-15 days) and chitosan and polyglactin 910 30 days (QP-30 days). Each group was composed of six rabbits, in Which Were there two incisions, one on the right and one on the left and the laparorrhaphy Then with Chitosan wire on one side and chromic catgut or polyglactin 910 on the other. Held clinical-surgical, histological evaluation and autopsy findings, and cytotoxicity and mechanical tests on Chitosan wire. He had low mechanical strength and cytotoxic. The Chitosan yarn does not Provide a satisfactory healing in rabbits, it triggers a strong inflammatory response, possibly due to the polymer's characteristics, its physicochemical properties During production thereof and by this toxicity wire, more research is needed with respect Their production and use.

Keywords: surgery, cleft, chitin, tissue repair.

INTRODUÇÃO

A cicatrização tecidual é um processo biológico complexo, que busca a restauração das características fisiológicas do tecido, na tentativa de restabelecer sua função normal. Este evento ocorre em três fases: inflamatória, proliferativa e de remodelamento (Young e McNaught, 2011).

O fio de sutura é um produto invasivo produzido a partir de material sintético ou natural, utilizado para manter as bordas da ferida aproximadas até pelo menos a fase proliferativa da cicatrização, e deve ser resistente ao meio no qual atua (Morais *et al.*, 2013).

A quitosana é um biopolímero obtido a partir da quitina, que é um polissacarídeo presente no exoesqueleto de crustáceos, encontrado abundantemente na natureza (Moura *et al.*, 2006). Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fontes naturais renováveis (Azevedo *et al.*, 2007).

A produção de biomateriais à base de quitosana tem sido foco de várias pesquisas, visto que a utilização de polímeros naturais para aplicações diversificadas contribui para os avanços das ciências e apresentam diversas vantagens relacionadas à fácil aplicabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (Azevedo *et al.*, 2007).

Khor e Lim (2003) realizaram estudos sobre a aplicação da quitosana em vários tipos de implantes (ortopédicos e odontológicos), reconstituição de tecidos, liberação controlada de drogas, uso como cicatrizante e biocompatibilizante entre tecidos, onde ficou comprovado o uso promissor desse material nas aplicações analisadas.

Azevedo *et al.* (2013) analisaram os efeitos da hidroxiapatita e quitosana no reparo do tecido ósseo em coelhos, mostrando uma biocompatibilidade da quitosana, a qual estimulou uma maior deposição de tecido ósseo tanto aos 30 dias como aos 60 dias de pós-operatórios.

O presente estudo teve por objetivo avaliar a cicatrização da musculatura reto-abdominal em coelhos submetidos à laparotomia com fio de sutura à base de quitosana comparando-o aos fios catgut cromado e poliglactina 910.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, (UFCG), em Patos, Paraíba, e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa desta instituição, segundo protocolo de aprovação nº 002/2016.

Foram utilizados 24 coelhos adultos, hígidos, de ambos os sexos, da raça Nova Zelândia, pesando em média $3,0 \pm 0,95$ kg (média \pm desvio padrão), provenientes de um criatório da cidade de Patos/PB. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos, com seis animais cada, sendo: grupo quitosana e catgut cromado 15 dias (QC-15), quitosana e catgut cromado 30 dias (QC-30 dias), quitosana e poliglactina 910 15 dias (QP-15) e quitosana e poliglactina 910 30 dias (QP-30). Os animais foram alojados em gaiolas individuais, desverminados com albendazol 5% (Magzole 5%, Leivas Leite S/A Indústrias Químicas e Biológicas, Brasil) na dose de 20 mg/kg, por via oral, e passaram por um período de adaptação de sete dias antes do início do experimento, recebendo ração balanceada duas vezes ao dia e água potável *ad libitum* durante todo o experimento.

Foram utilizados três tipos de fios de suturas absorvíveis: quitosana, catgut

cromado e poliglactina 910.

Os fios de quitosana foram confeccionados no Laboratório de Engenharia de Materiais do Programa de Pós-graduação da UFCG, *Campus* de Campina Grande/PB. Para a obtenção destes, foram utilizados béquer de 250 mL, agitador mecânico e uma bomba infusora. A solução de quitosana a 4% foi preparada pesando 4 g de quitosana em pó (Grau de desacetilação 75%-85% e acetilação de 25-15%) mais 0,4 g do composto aditivo polietileno (Peo) sendo os solutos dissolvidos em 100 mL de solução de ácido acético a 1%. Em seguida, colocou-se a solução no agitador mecânico por 15 minutos. A solução de quitosana obtida foi colocada em descanso por 24 horas para que as bolhas formadas durante a sua produção se desmanchassem. Os fios de quitosana foram feitos através da técnica de fiação úmida. Para a extrusão da solução de quitosana, usou-se seringas de 10 mL, agulhas de calibre 16 G (abertura 1,6 mm) e a bomba infusora com velocidade de 45 mL/h. Ao ser bombeada pela bomba infusora, a solução de quitosana saiu da seringa e foi imersa em uma solução de coagulação, composta por hidróxido de sódio a 1 M/L. Os fios permaneceram dentro da solução de coagulação por uma hora, em seguida, foram retirados e lavados com água destilada para remover o hidróxido de sódio. Após a lavagem, os fios foram colocados em uma solução contendo 70 mL de álcool etílico (99,9%) e 30 mL de água destilada durante três horas, sendo posteriormente imersos em 100 mL de água destilada, onde permaneceram por 24 horas. Os fios foram retirados da água destilada e estirados sobre uma superfície de mármore para secar.

Após a produção dos fios, os mesmos passaram por ensaios biomecânico, dimensional e de citotoxicidade e por microscopia eletrônica de varredura. A técnica de microscopia foi utilizada para verificar possíveis modificações na morfologia do fio e identificar se ele é monofilamentar ou multifilamentar. Os fios de quitosana foram esterilizados com óxido de etileno.

No pré-operatório os animais foram anestesiados com xilazina 2% (Xilazin injetável 2%, Ouro fino, Brasil) na dose de 5 mg/kg e cetamina (Cetamin injetável 10%, Agrofur, Brasil) na dose de 40 mg/kg, ambos aplicados pela via intramuscular. Após 15 minutos, realizou-se a tricotomia da região abdominal e epidural lombossacra. Em seguida foi feita a anestesia epidural lombossacra com cloridrato de lidocaína a 2% (Anestt 2%, Syntec Ltda, Brasil) na dose de 0,3 mL/kg. Administrou-se ainda

meloxicam (Maxicam injetável 2%, Ouro fino, Brasil), na dose de 0,2 mg/kg, por via intramuscular, o qual foi repetido a cada 24 horas durante três dias de pós-operatório.

Os animais foram colocados em decúbito dorsal sobre a acalha cirúrgica forrada com um colchão térmico e realizou-se a antissepsia da área operatória com clorexidina 0,5% (Riohex 0,5%, Rioquímica Indústria Farmacêutica Ltda, Brail) e colocação dos panos de campo. Realizaram-se duas incisões longitudinais bilaterais na região paramamária de aproximadamente 5 cm na pele, utilizando lâmina de bisturi nº 24 (Brasmed, Brasil). Procedeu-se à divulsão do tecido subcutâneo com tesoura de Metzenbaum reta (Brasmed, Brasil), incisão na fáscia, musculatura e peritônio, e logo depois à miorrafia incluindo os três planos (fáscia, músculo e peritônio). No primeiro grupo (QC15- quitosana, categute cromado 15 dias) de um lado da incisão foi realizada miorrafia com fio de quitosana 2-0 e no outro, a miorrafia com fio categute cromado 2-0. No segundo grupo (QP15- quitosana e poliglactina 910-15 dias) em um lado da incisão utilizou-se o fio de quitosana 2-0 e no outro lado o fio poliglactina 910 2-0. Em ambos os grupos utilizou-se o padrão “X” de sutura na miorrafia. O mesmo procedimento cirúrgico foi repetido para os animais do período de 30 dias de eutanásia. Para a redução do espaço morto, utilizou-se o fio categute cromado 2-0 quando a miorrafia foi realizado com o fio categute cromado ou quitosana e o poliglactina 910 quando na miorrafia empregou-se a poliglactina 910. O padrão utilizado para todos os grupos foi o vai-e-vem e na dermorrafia utilizou-se o fio de náilon 3-0 padrão simples separado para todos os animais.

No pós-operatório foi realizada diariamente a avaliação clínica da ferida cirúrgica por 10 dias, observando o grau da resposta inflamatória (discreta, moderada, acentuada), presença ou ausência de secreção, infecção e presença de hérnia incisional. A avaliação clínica foi realizada sempre pelo mesmo avaliador, o qual desconhecia o protocolo utilizado. A limpeza da ferida cirúrgica foi feita com solução de ringer com lactato (Solução de Ringer com lactato, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda., Brasil) duas vezes ao dia, assim como os curativos cutâneos. Após 10 dias do procedimento cirúrgico, os pontos foram removidos.

As eutanásias foram realizadas em dois momentos, sendo 12 animais após 15 dias e 12 após 30 dias do procedimento cirúrgico. Para tal, os animais foram anestesiados com xilazina e cetamina nas doses de 5 e 40 mg/kg, respectivamente, por

via intramuscular. Após 15 minutos foram induzidos à anestesia geral com propofol (Propovan 1%, Cristália Produtos Químico Farmacêuticos Ltda, Brasil) na dose de 5 mg/kg, por via intravenosa, e em seguida foi administrado na cisterna magna cloridrato de lidocaína (Lidovet 2%, Bravet, Brasil) no volume de 0,1mL/kg.

Após a eutanásia, o patologista realizou a necropsia e observou a presença de aderências a órgãos da cavidade abdominal e o aspecto da cicatrização. Durante o procedimento de necropsia coletaram-se fragmentos de tecido muscular da área suturada, os quais foram colocados em recipientes contendo formol a 10%, identificados de acordo com o lado de cada fragmento (direito e esquerdo) e o número do animal.

Para o estudo histológico dos fragmentos, as peças foram fixadas em solução de formol tamponado a 10%, durante 10 dias, após isso, realizou-se a clivagem e o processamento histotécnico rotineiro. Posteriormente, incluiu-se o material em parafina para a confecção de lâminas histológicas, que foram coradas pela hematoxilina e eosina e submetidas às respectivas leituras, sempre pelo mesmo patologista o qual desconhecia o protocolo de sutura utilizado. A avaliação da cicatrização muscular foi feita com base nos achados histopatológicos, no qual se analisou o grau da reação inflamatória a partir da ausência, presença e frequência das células e estruturas envolvidas na resposta inflamatória, sendo atribuídos valores de escores de zero a três. As células e estruturas analisadas foram os neutrófilos, macrófagos, células gigantes, linfócitos, eosinófilos, necrose, calcificação, tecido de granulação, fibrose e hemorragia. A leitura para identificar a frequência celular foi executada da seguinte forma: ausente (0), discreta (1) (não circunda totalmente o fio), moderado (2) (circunda totalmente o fio), intenso (3) (circunda totalmente o fio, numa espessura duas a três vezes maior que a anterior) (Gianlupi e Trindade, 2004).

A análise estatística dos dados foi realizada através do programa BioEstat 5.0. Os dados referentes aos escores da resposta celular na análise histopatológica foram avaliados empregando o teste de U-Mann-Whitney. Os dados são apresentados como média \pm desvio-padrão. Todos os testes foram aplicados ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Ensaios biomecânico e dimensional do fio de quitosana

O fio de quitosana apresentou uma resistência mecânica de 80% (9,8 N) estando

abaixo da norma NBR 13904/2003 que estabelece uma resistência mecânica para fios de sutura 3-0 de 12,26 N. Suturas com alta resistência à tração e boa segurança de laço minimizam o risco de rompimento do fio de sutura, previne o surgimento de hérnias incisionais e reduzem a quantidade de material na região traumatizada (Campos *et al.*, 2009).

As dimensões apresentaram-se bastante variáveis, porém, se enquadraram nos limites exigidos da norma. Segundo Speranzini e Deutsch (2010), a qualidade do fio de sutura e seu diâmetro são essenciais para evitar o surgimento de hérnias incisionais, pois fios com diâmetros baixos deverão ser evitados em regiões que apresentam uma alta tensão.

- Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Observou-se uma superfície com caráter estável, monofilamentar e uniforme, apresentando discretas falhas em algumas áreas (Fig.1). As falhas observadas se devem supostamente ao método de produção do fio no momento da fiação que ocorre através do uso de agulhas durante a infusão. Os fios monofilamentares comprovadamente levam à menor reação inflamatória, ao contrário dos multifilamentares, tanto absorvíveis quanto inabsorvíveis, que provocam uma reação inflamatória mais intensa. Essa resposta pode ser atribuída aos vários filamentos que se entrelaçam, podendo favorecer a persistência bacteriana em um meio potencialmente contaminado (Tognini e Goldenberg, 1996).

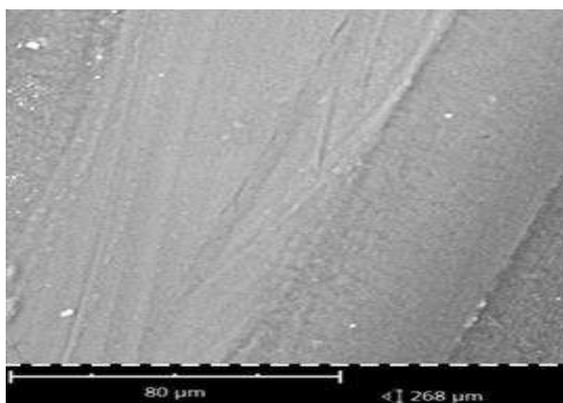


Figura 1. Morfologia da superfície fio de quitosana monofilamentar. Amplitude de 400x.

- Avaliação da citotoxicidade do fio de quitosana

Os fios de quitosana foram submetidos à testes de citotoxicidade de acordo com

a norma ISO 10993-5 (Rogerio *et al.*, 2003).

Os fios de quitosana apresentaram um índice de viabilidade de 30%, indicando que eles são tóxicos, visto que, as células não conseguiram sobreviver quando em contato com o fio.

A hipótese para esta toxicidade foi o excesso de hidróxido de sódio (NaOH) presente na solução coagulante que foi utilizada durante a fiação, pois outros fios de quitosana foram produzidos aumentando o número e o tempo de lavagens, estes novos fios foram submetidos a testes de citotoxicidade apresentando melhores resultados. Estes resultados diferem dos encontrados por Silva *et al.* (2006) e Vulcani *et al.* (2015) que comprovaram a biocompatibilidade e a atoxicidade do polímero de quitosana.

- Avaliação clínica da ferida cirúrgica

As feridas cirúrgicas nas quais foram utilizados o categute cromado e poliglactina 910 nos períodos de 15 e 30 dias de eutanásia, apresentaram resposta inflamatória moderada e discreta, respectivamente. Essa diferença se deve ao tipo de absorção de cada fio, pois materiais orgânicos absorvidos por proteólise induzem reação tecidual maior, comparados aos materiais sintéticos absorvidos por hidrólise (Filho *et al.*, 2015). Nas feridas que em que se utilizou o fio de quitosana, nos períodos de 15 e 30 dias de eutanásia foram observados sinais de inflamação (dor, rubor e calor) no local da ferida cirúrgica durante os três primeiros dias de avaliação, além de considerável aumento de volume que ao ser pressionado liberava secreção purulenta. Esse aumento de volume foi observado a partir do terceiro dia de pós-operatório. Depois de constatada a presença de secreção, foi administrado antibiótico de amplo espectro, enrofloxacin (Floxacin 10%, Biofarma Química e Farmacêutica Ltda., Brasil) na dose de 10 mg/kg pela via intramuscular duas vezes ao dia durante sete dias, contudo, o aumento de volume e secreção ainda persistiram após o término da administração do antibiótico. Supondo-se que tal secreção não era em decorrência de infecção, e sim de uma resposta tecidual ao fio de quitosana. Os resultados encontrados na avaliação clínica diferem dos relatados por Santana *et al.* (2014) que utilizaram filmes de quitosana na reparação do tendão em coelhos, e não observaram complicações como inflamação acentuada e presença de secreção purulenta.

Ocorreram três óbitos, sendo um antes do início do procedimento cirúrgico por parada cardiorrespiratória decorrente da anestesia e dois por evisceração. Dos coelhos

restantes, um apresentou hérnia incisional, sendo realizada correção cirúrgica. Todos os casos de hérnias ocorreram no lado em que foi usado o fio de quitosana, no primeiro dia de avaliação clínica do período de 30 dias. A hipótese para estes casos de hérnias é que o fio de quitosana apresentou baixa resistência mecânica. Devido aos casos de óbitos, foram adquiridos mais animais pra completar o grupo experimental.

- Laudo de necrópsia dos grupos

Durante a necropsia observou-se presença de múltiplos abscessos e moderada aderência às vísceras na região de todos dos animais em que foi utilizado o fio de quitosana nos dois períodos de eutanásia. Na região em que foi utilizado o categute cromado na miorrafia, nos períodos de 15 e 30 dias de eutanásia, observou-se em dois coelhos a presença discreta de abscessos no subcutâneo e mínima aderência a vísceras, o que também foi observado na região em que se utilizou o fio poliglactina 910. Segundo Freitas *et al.* (2012) as aderências são constituídas por tecido conjuntivo, e podem ser transitórias, em resposta à inflamação local branda, conhecida como fibrinosa, ou podem ser fibrosas, decorrentes de processos inflamatórios mais severos. Em virtude da resposta inflamatória mais acentuada causada pelo fio de quitosana, as aderências se mostraram mais frequentes e nítidas comparadas aos fios categute cromado e poliglactina 910, cuja inflamação se apresentou de forma moderada e leve, respectivamente.

- Avaliação histopatológica

Os resultados da análise histológica quanto à resposta inflamatória dos fios de suturas utilizados no procedimento cirúrgico durante os períodos de 15 e 30 dias de eutanásia, encontram-se nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Escores (média±desvio padrão) da resposta celular na análise histopatológica dos grupos GQ e GC aos 15 e 30 dias de pós-operatório.

Variáveis	Momento de eutanásia			
	15 dias		30 dias	
	GQ	GC	GQ	GC
Neutrófilos	2,5±1,2a	0,7±0,8b	2,7±0,5a	0,8±1,0b
Macrófagos	1,5±0,6a	0,3±0,8b	2,0±0,2a	1,5±0,8b
Células gigantes	1,5±0,8	1,7±0,5	1,5±0,8	1,2±0,8
Linfócitos	1,0±0,0	1,0±0,0	1,5±0,5	1,3±0,5
Eosinófilos	1,7±0,5a	0,8±0,4b	1,7±0,8a	0,8±0,8b
Necrose	1,7±1,0	1,0±0,9	1,7±0,8a	0,3±0,8b

Calcificação	0,5±0,8	0,8±0,8	0,5±0,5	0,0±0,0
Tecido de granulação	2,3±0,5	2,3±0,5	2,0±0,9	2,2±0,8
Fibrose	0,3±0,8	0,3±0,8	2,0±0,9	2,0±0,9
Hemorragia	0,2±0,4	0,0±0,0	0,0±0,0	0,2±0,4

a e b significam diferença estatística entre os grupos segundo o teste U-Mann Whitney ($p < 0,05$).

Tabela 2. Escores (média±desvio padrão) da resposta celular na análise histopatológica dos grupos GQ e GP aos 15 e 30 dias de pós-operatório.

Variáveis	Momento de Eutanásia			
	15 dias		30 dias	
	GQ	GP	GQ	GP
Neutrófilos	3,0±0,0a	0,3±0,5b	2,8±0,4a	0,2±0,4b
Macrófagos	1,3±0,2a	0,3±0,8b	2,3±0,5a	1,7±0,5b
Células gigantes	1,5±0,5	2,7±0,5	1,3±0,8	1,2±0,8
Linfócitos	0,7±0,5	0,8±0,4	2,2±0,4	1,7±0,5
Eosinófilos	1,4±0,3a	0,8±0,4b	2,0±0,6a	0,8±0,8b
Necrose	1,8±1,0	0,7±0,5	1,2±0,8a	0,2±0,4b
Calcificação	1,2±0,8	1,7±1,5	0,2±0,4	0,3±0,8
Tecido de granulação	2,7±0,5	2,8±0,4	2,0±0,6	2,7±0,5
Fibrose	0,0±0,0	0,0±0,0	2,0±0,6	1,8±1,3
Hemorragia	0,2±0,4	0,2±0,4	0,2±0,4	0,0±0,0

a e b significam diferença estatística entre os grupos segundo o teste U-Mann Whitney ($p < 0,05$).

O fio de quitosana nos períodos de 15 e 30 dias de eutanásia desencadeou uma reação inflamatória piogranulomatosa acentuada, caracterizada pelo infiltrado inflamatório constituído predominantemente por neutrófilos em sua maioria degenerados ao redor do fio (Fig. 2), macrófagos e em menor número de eosinófilos e raros linfócitos, associado a áreas multifocais de necrose. Havia ainda presença de células gigantes multinucleadas do tipo corpo estranho. No interior do citoplasma de tais células gigantes observou-se material eosinofílico sendo fagocitado. Na periferia dos abscessos havia moderado tecido de granulação. Redrobe (2002) observou que a formação de material caseoso é uma forma de resposta a corpo estranho nos coelhos, sendo uma característica própria da espécie. Na análise histopatológica, nos dois períodos de estudo, visualizou-se um material eosinofílico birrefringente, caracterizado como o fio de quitosana. Esse material eosinofílico birrefringente esteve presente também nos fios catagute cromado nos períodos de 15 e 30 dias, já no fio poliglactina 910 no período de 15 dias foi observado a presença de material basofílico birrefringente.

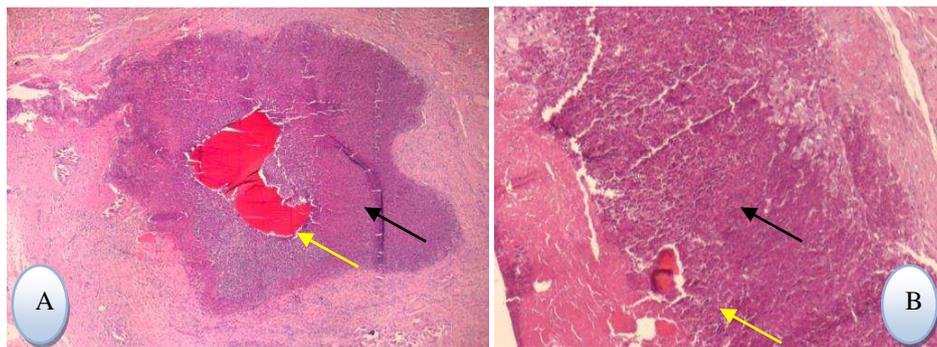


Figura 2. (A) Infiltrado neutrofílico (seta preta) em volta do material eosinofílico birrefringente (seta amarela) no período de 15 dias. HE. Objetiva 10X. (B) Infiltrado neutrofílico em volta do material eosinofílico birrefringente no período de 30 dias. HE. Objetiva 10X.

A resposta celular imediata ocorre sempre quando um corpo estranho entra em contato com um tecido vivo. Durante a primeira etapa dessa resposta celular há um predomínio de neutrófilos e macrófagos, caracterizando a fase aguda do processo inflamatório. Os neutrófilos são substituídos por células mononucleares, constituída por linfócitos e histiócitos dando início à fase crônica do processo inflamatório (Kleinpaull e Bicas, 2005).

Os neutrófilos e macrófagos são células da imunidade inata, que agem na fagocitose, liberação e ativação de mediadores inflamatórios, ativação de proteínas do sistema complemento, síntese de proteínas de fase aguda, citocinas e quimiocinas. Moléculas de polissacarídeos, comumente encontradas na superfície de micro-organismo, constituem Padrões Moleculares Associados a Patógenos (PAMPs) e ativam a resposta imune inata, por interação com diferentes receptores conhecidos como Receptores de Reconhecimento de Padrões (RRP) dentre os quais a família dos receptores *Toll-like* (TLRs). Entre os vários RRP envolvidos em opsonização, ativação de complemento e fagocitose, os TLRs se destacam por seu papel central na ligação a patógenos e iniciação da resposta inflamatória (Machado *et al.*, 2004; Cruvinel *et al.*, 2010). A elevada expressão celular de neutrófilos e macrófagos pode está relacionada à interação de receptores *Toll-like* na superfície celular com moléculas de polissacarídeos presentes na estrutura da quitosana. Os efeitos tóxicos do hidróxido de sódio (NaOH) liberado pelo fio de quitosana podem ter potencializado ainda mais a neutrofilia, visto que polímeros citotóxicos tendem a estimular a degranulação de neutrófilos (Cristovam *et al.*, 2010).

A diferença na contagem de eosinófilos entre os grupos quitosana e categute e quitosana e poliglactina 910 nos períodos de 15 dias e 30 dias pode ser atribuída à

reação do tipo corpo estranho ou anticorpo/antígeno desencadeada com maior intensidade pelo fio de quitosana. Os eosinófilos participam ativamente de reações imunes mediadas por IgE (hipersensibilidade tipo 1) e infecções parasitárias, se apresentando-se acentuados em casos de reação do tipo anticorpo/antígeno (Spinelli *et al.*, 2012). A eosinofilia por infestações endoparasitárias foi descartada, uma vez que todos os animais foram devidamente desverminados. Segundo Aranaz *et al* (2009) proteínas residuais da quitina e quitosana podem provocar reações alérgicas de hipersensibilidade, e que o teor de proteínas destes polímeros depende da fonte da amostra.

Ocorreu um grau acentuado de necrose do grupo quitosana no período de 30 dias de eutanásia, comparado aos grupos categute e poliglactina 910 no mesmo período. A conjectura para esta diferença é que os animais do período de 30 dias tiveram um contato mais prolongado aos agentes tóxicos do fio de quitosana comparados aos do período de 15 dias de eutanásia. Gomes (2009) em um estudo comparando o filme de quitosana com gordura autógena na prevenção de aderências pós-laminectomia dorsal em coelhos também observou acentuado foco de necrose em volta do filme de quitosana. Segundo Armstrong (2006) os efeitos de agentes tóxicos sobre as mitocôndrias estão diretamente relacionados à regulação da morte celular, pois eles agem na geração de ATP nas mitocôndrias alterando a permeabilidade da membrana e na concentração de cálcio intramitocondrial, o que pode explicar a presença de necrose nos grupos em que se utilizou o fio de quitosana.

A taxa de degradação da quitosana e o GD (grau de desacetilação) influenciam na resposta inflamatória, pois amostras de quitosana com alto GD apresentam menor velocidade de degradação e conseqüentemente gera mínima reação inflamatória (Aranaz *et al.*, 2009). Chatele *et al* (2001) estudaram a influência do grau de acetilação (GA) em algumas propriedades biológicas dos filmes de quitosana e observaram que quanto maior o GA da quitosana, menor a adesão celular e maior a proliferação celular, concluindo que o GA influencia no crescimento celular e na adesão celular, eles ressaltaram também a importância da morfologia da superfície do material na adesão celular.

Não houve diferença estatística entre os grupos quanto às células gigantes, linfócitos, calcificação, tecido de granulação, fibrose e hemorragia. As hipóteses para

estes resultados é que os receptores *Toll-like* estão presentes apenas nas superfícies só de algumas células, acentuando a resposta inflamatória frente às moléculas de polissacarídeos ou ainda a influência do grau de acetilação/desacetilação da quitosana na aderência e proliferação celular. Segundo Trindade e Gianlupi (2004), os fios de suturas absorvíveis geralmente não causam fibrose acentuada, pois eles não permanecem no tecido por tempo prolongado. Já a ausência de calcificação possivelmente se deve à atividade fagocitária exercida pelos neutrófilos e macrófagos, que eliminam os debris celulares e restos de tecidos necróticos, impedindo a calcificação (Jones *et al.*, 2003).

CONCLUSÃO

O fio de quitosana utilizado neste estudo não proporcionou uma cicatrização satisfatória em coelhos, pois desencadeou uma resposta inflamatória acentuada, possivelmente devido à toxicidade do fio adquirida durante sua produção, sendo necessários mais estudos no que diz respeito a sua produção e utilização.

REFERÊNCIAS

ARANAZ, I; MENGÍBAR, M; HARRIS, R. Functional characterization of chitin and chitosan. *Current Chemical Biology*, v.3, n.2, 2009.

ARMSTRONG, J.S. The role of the mitochondrial permeability transition in cell death. *Mitochondrion*, v.6, n.5, p.225-234, 2006.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 13904. Fios para sutura cirúrgica. Rio de Janeiro, 2003. 15p.

AZEVEDO, V.V.C.; CHAVES, S.A; BEZERRA, D.C. *et al.* Quitina e Quitosana: aplicações como materiais. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.2, n.3, p.27-34, 2007.

AZEVEDO, A.S; SÁ, M.J.C; FOOK, M.V.L. *et al.* Hidroxiapatita e quitosana isoladas e associadas à medula óssea no reparo do tecido ósseo em coelhos. Estudo histológico e

morfométrico. *Ciênc. Rural.*, v.43, n.7, p.1265-1270, 2013.

CHATELET, C; DAMOUR, O; DOMARD, A. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films. *Biomaterials*,v.22, n.3, p. 261-268, 2001.

CRISTOVAM, M.A.S; GONÇALVES, G.F; TAKEMURA,O.S. *et al.* Degranulação de neutrófilos ex-vivo por ação do polímero de amido de mandioca. *Ciênc. Rural.*, v.40, n.5, p.1103-1108, 2010.

CRUVINEL, W. M; JÚNIOR, D. M; ARAÚJO, J. A. P. *et al.* Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. *Rev. Bras. Reumatol.*, v.50, n.4, p.434-461, 2010.

FILHO, S. H. A; LAMARO, L; QUEIROZ, P. J. B. *et al.* Aspectos gerais dos fios de suturas utilizados ou com potencial aplicabilidade na medicina veterinária. *Enciclopédia Biosfera*, v.11, n.22, p.319-350, 2015.

FREITAS, S.H.; DÓRIA, R.G.S.; LASKOSKI, L.M.*et al.* Aderência intra-abdominal após ovariosalpingohisterectomia em cadela - Relato de caso. *Rev. Bras. Med. Vet.*, v.34, n.3, p.213-222, 2012.

GIANLUPI, A; TRINDADE, M. R. M. Comparação entre o uso de fio inabsorvível (polipropileno) e fio absorvível (poliglactina 910) na fixação de prótese de polipropileno em correção de defeitos músculo-aponeuróticos da parede abdominal. Estudo experimental em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.19, n.2, 2004.

GODEIRO, J.R.S. *Estudo comparativo da reação tecidual entre fios de nylon e quitosana em suturas no peritônio de ratos.* 2010. 38f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró.

GOMES, F. A. S. *Filme à base de quitosana comparada à gordura autógena na*

prevenção de aderências pós-laminectomia dorsal em coelhos. 2009. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

JONES, T. C; HUNT, R. D; KING. N. N. W. *Patologia Veterinária*, 6ª ed, São Paulo, Manole, p.1415, 2003.

KLEINPAUL, E.R; BICAS, H.E. A. Estudo histológico comparativo de implantes (ímas) em órbitas de coelhas. *Arq. Bras. Oftalmol.*, v.68, n.5, p.667-673, 2005.

KHOR, E.; LIM, L.Y. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, v.24, p.2339-2349, 2003.

MACHADO, P. R. L; CARVALHO, L; ARAÚJO, M. I. A. S *et al*. Mecanismo de resposta imune à infecções. *An. Bras. Dermatol*, v.79, n.6, p.647-664, 2004.

MORAIS, L.O; FRIEDRICH, K; MELCHIOR, S.C. *et al*. Eventos adversos e queixas técnicas relacionados ao fio para sutura cirúrgica comercializado no Brasil. *Revista Visa em Debate*, v.1, n.2, p.35-45, 2013.

MOURA, C.; MUSZINSKI, P.; SCHMIDT, C. *et al*. Quitina e quitosana produzidas a partir de resíduos de camarão e siri: Avaliação do processo em escala piloto. *Vetor - Revista de Ciências Exatas e Engenharias*, v.16, n.1, p.37-45, 2006.

REDROBE, S. Soft tissue surgery of rabbits and rodents. *Seminars in avian and exotic pet medicine*, v.11, n.1, p.231-245, 2002.

ROGERO, S. O; LUGÃO, A. B; IKEDA, T. I *et al*. Teste in vitro de citotoxicidade : Estudo comparativo entre duas metodologias. *Materials Research*, v.6, n.3, p.317-320, 2003.

SANTANA, C.C; NÓBREGA NETO, P.I.; SÁ, M.J.C *et al*. Utilização do filme de

quitosana na reparação de tendão em coelhos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.66, n.4, p.995-1002, 2014.

SILVA, A.S.R.; SANTOS, K.S.C.R.; FERREIRA, E.I. Quitosana: Derivados hidrossolúveis, aplicações farmacêuticas e avanços. *Quim. Nova*, v.29, n.4, p.776-785, 2006.

SPINELLI, M.O; GODOY, C.M.S; MOTTA, M.C. *et al.* Parâmetros Hematológicos Normais em Coelhos Nova Zelândia do Biotério da Faculdade de Medicina da USP. *Resbcal*, v.1, n.3, p.224-228, 2012.

SPERANZINI, M. B; DEUTSCH, C. R. Grandes hérnias incisionais. *ABCD Arq. Bras. Cir. Dig*, v.23, n.4, p.280-286, 2010.

TOGNINI, J.R.F; GOLDENBERG, S. Síntese da parede abdominal: Sutura contínua ou com pontos separados? Revisão da literatura. *Acta Cir. Bras.*, v.13, n.2, 1998.

VULCANI, V.A.S; FRANZO, V.S; RABELO, R.E. *et al.* In vivo biocompatibility of manstructured chitosan/Peo membranes. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*, v.67, n.4, p.1039-1044, 2015.

YOUNG, A; MCNAUGHT, C.E. The physiology of wound healing. *Basic Science*, v. 29, n.10, p.475-479, 2011.

GIANLUPI, A; TRINDADE, M. R. M. Comparação entre o uso de fio inabsorvível (polipropileno) e fio absorvível (poliglactina 910) na fixação de prótese de polipropileno em correção de defeitos músculo-aponeuróticos da parede abdominal. Estudo experimental em ratos. *Acta Cirúrgica Brasileira*, v.1, n.2, 2004.

CONCLUSÕES GERAIS

Com base nos resultados obtidos dos dois artigos, pode-se concluir que a forma de produção do fio de quitosana interferiu na sua biomecânica e valor dimensional,

apresentando-se com baixa resistência a tração e variabilidade nas suas dimensões.

A metodologia de produção do fio também influenciou na toxicidade do mesmo que juntamente com as características do polímero e suas propriedades físico-químicas, desencadearam uma resposta inflamatória acentuada prejudicando o processo de cicatrização.

Porém, diante das perspectivas e diversas pesquisas em torno da quitosana, ressalta-se a importância da melhoria de técnicas no método de fabricação do fio de quitosana.

ANEXOS

Normas para publicação da Revista CIÊNCIA RURAL

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os artigos científicos, revisões e notas devem ser encaminhados via eletrônica e editados em idioma Português ou Inglês. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. **O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.** Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que **não poderão ultrapassar as margens e nem estar com apresentação paisagem.**

3. O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão e Referências; Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo .doc, .pdf).

4. A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; e Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão** (Modelo .doc, .pdf).

5. A nota deverá conter os seguintes tópicos: Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências. Agradecimento(s) e Apresentação; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** (Modelo .doc, .pdf).

6. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

7. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

8. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

9. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

9.1.Citação de livro: JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery.** Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros.** Manaus : INPA, 1979. 95p.

9.2.Capítulo de livro com autoria: GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

9.3.Capítulo de livro sem autoria: COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4, p.72-90.
TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

9.4.Artigo completo: O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Acesso em: 20 nov. 2008. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Resposta de *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) e *Oryzaephilus surinamensis* (L.) a diferentes concentrações de terra de diatomácea em trigo armazenado a granel. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 25 nov. 2008. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002

9.5.Resumos: RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236.

9.6.Tese, dissertação: COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria.

9.7.Boletim: ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20).

9.8.Informação verbal: Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

9.9.Documentos eletrônicos: MATERA, J.M. **Afecções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD.

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Acessado em 12 fev. 2007. Online. Disponível em:
<http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em:
<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000.

Acessado em 23 mar. 2000. Online. Disponível em: <http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC.

10. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

11. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

12. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.

13. Lista de verificação (Checklist .doc, .pdf).

14. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.

15. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.

16. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

(Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences)

Política Editorial

O periódico *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science)*, ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <www.abmvz.org.br>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis nos endereços www.scielo.br/abmvz ou www.abmvz.org.br.

Orientação para tramitação de artigos

Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação on-line do ABMVZ no endereço www.abmvz.org.br.

Apenas o autor responsável pelo artigo deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema.

Toda comunicação entre os diversos atores do processo de avaliação e publicação (autores, revisores e editores) será feita exclusivamente de forma eletrônica pelo

Sistema, sendo o autor responsável pelo artigo informado, automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status do artigo.

A submissão só se completa quando anexado o texto do artigo em Word e em pdf no campo apropriado.

Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridas no texto e também enviadas, em separado, em arquivo com extensão jpg em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido no campo próprio.

Tabelas e gráficos não se enquadram no campo de arquivo zipado, devendo ser inseridas no corpo do artigo.

É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no mesmo submetido.

O ABMVZ comunicará, via eletrônica, a cada autor, a sua participação no artigo. Caso pelo menos um dos autores não concorde com sua participação como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

Comitê de Ética

É indispensável anexar cópia do Certificado de aprovação do projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. Esclarecemos que o referido documento deve constar como sendo a primeira página do texto em Word (não incluir no texto em pdf), além da menção, em Material e Métodos, do número do Certificado de aprovação do projeto.

Tipos de artigos aceitos para publicação:

Artigo científico

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 30.

Relato de caso

Contempla principalmente as áreas médicas, em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Filiação, Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 10, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Comunicação

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental, dignos de publicação, embora insuficientes ou inconsistentes para constituírem um artigo científico.

O texto, com título em português e em inglês, Autores e Filiação deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para “Artigo científico”, embora seguindo aquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um “Abstract” e quando redigida em inglês deve conter um “Resumo”.

O número de páginas não deve exceder a 8, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal. Para ortografia em inglês recomenda-se o *Webster's Third New International Dictionary*. Para ortografia em português adota-se o *Vocabulário Ortográfico da Língua Portuguesa*, da Academia Brasileira de Letras.

Formatação do texto

O texto **NÃO** deve conter subitens em qualquer das seções do artigo e deve ser apresentado em Microsoft Word, em formato A4, com margem 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), em fonte Times New Roman tamanho 12 e em espaçamento entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.

Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

Seções de um artigo

☐☐ **Título.** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 150 dígitos.

☐☐ **Autores e Filiação.** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a que pertencem. O autor para correspondência e seu e-mail devem ser indicados com asterisco.

Nota:

1. o texto do artigo em Word deve conter o nome dos autores e filiação.

2. o texto do artigo em pdf **NÃO** deve conter o nome dos autores e filiação.

☐☐ **Resumo e Abstract.** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 2000 dígitos incluindo os espaços, em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação. Atenção especial às conclusões.

☐☐ **Palavras-chave e Keywords.** No máximo cinco.

☐☐ **Introdução.** Explicação concisa, na qual são estabelecidos brevemente o problema, sua pertinência e relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, suficientes para balizá-la.

☐☐ **Material e Métodos.** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados.

Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverá constar, obrigatoriamente, o número do Certificado de aprovação do CEUA. (verificar o Item Comitê de Ética).

☐☐ **Resultados.** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

☐☐ **Tabela.** Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando se referir a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é 8). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser, obrigatoriamente,

inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

□□ **Figura.** Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema, etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é referida no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se referir a mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviadas no formato jpg com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão na tela de registro do artigo. As figuras devem ser, obrigatoriamente, inseridas no corpo do texto preferencialmente após a sua primeira citação.

Nota:

□□ Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

□□ **Discussão.** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer das partes e sem subitens).

□□ **Conclusões.** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, **SEM** revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

□□ **Agradecimentos.** Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

□□ **Referências.** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais ABNT, **adaptadas** para o ABMVZ conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

□□ A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

□□ autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88)

□□ dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974)
 □□ mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979)
 □□ mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

□□ Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências, deve-se incluir apenas a fonte consultada.

□□ Comunicação pessoal. Não fazem parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores et al.):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. Am. J. Vet. Res., v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. Not. Med. Vet., n.1, p.13-20, 1984.

3. Publicação avulsa (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores et al.):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. Anais... São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. Documentos eletrônicos (até 4 autores, citar todos. Acima de 4 autores citar 3 autores et al.):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critca16.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

Nota:

Artigos que não estejam rigorosamente dentro das normas acima não serão aceitos para avaliação.

O Sistema reconhece, automaticamente, como “Desistência do Autor” artigos em diligência e/ou “Aguardando liberação do autor”, que não tenha sido respondido no prazo dado pelo Sistema.

Taxas de submissão e de publicação:

Taxa de submissão. A taxa de submissão de R\$50,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário, o autor informará os dados para emissão da nota fiscal. Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.

Taxa de publicação. A taxa de publicação de R\$150,00, por página, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico de submissão de artigos. Ao solicitar o boleto bancário,

o autor informará os dados para emissão da nota fiscal.

Recursos e diligências:

No caso de o autor encaminhar resposta a diligências solicitadas pelo ABMVZ, ou documento de recurso, o mesmo deverá constar como a(s) primeira(s) página(s) do texto do artigo somente na versão em Word.

No caso de artigo não aceito, se o autor julgar pertinente encaminhar recurso, o mesmo deve ser feito pelo e-mail abmvz.artigo@abmvz.org.br.